

答弁書



特許庁審査官 殿

1. 国際出願の表示

PCT/JP2005/003237

2. 出願人

名称

財団法人木原記念横浜生命科学振興財団  
KIHARA MEMORIAL YOKOHAMA  
FOUNDATION FOR THE ADVANCEMENT  
OF LIFE SCIENCES

あて名

〒244-0813 日本国神奈川県横浜市戸塚区舞岡町641-12  
641-12, Maioka-cho, Totsuka-ku,  
Yokohama-shi, Kanagawa 244-0813  
Japan

国籍

日本国 Japan

住所

日本国 Japan

名称

公立大学法人横浜市立大学  
YOKOHAMA CITY UNIVERSITY

あて名

〒236-0027 日本国神奈川県横浜市金沢区瀬戸22番2号  
22-2, Seto, Kanazawa-ku,  
Yokohama-shi, Kanagawa 236-0027  
Japan

国籍

日本国 Japan

住所

日本国 Japan

3. 代理人

氏名

(9812) 弁理士 間山 世津子  
MAYAMA Setsuko



あて名

〒221-0835 日本国神奈川県横浜市神奈川区鶴屋町  
3丁目30番の1 農機会館4階  
Nohki-kaikan Fourth Floor, 30-1,  
Tsuruyacho 3-chome, Kanagawa-ku,  
Yokohama-shi, Kanagawa 221-0835  
Japan

4. 通知の日付

20. 09. 05

## 5. 答弁の内容

### (1) 国際調査機関の見解の要点

出願人は、本願に対し、2005年7月19日起案の国際調査機関の見解書を受領致しました。その見解は、請求の範囲10及び11に係る発明は、国際調査報告で引用した文献1～8により新規性及び進歩性を有しないことを旨とするものであります。

(引用文献)

文献1. WO 2002/103042 A2 (EPIGENOMICS AG.) 2002.12.27

文献2. The DDBJ/EMBL/GeneBank databases [online] ; Submitted (10-MAR-2000),  
Accession No. AP001384

文献3. Nature, Vol. 420, (2002), p. 312-316

文献4. The DDBJ/EMBL/GeneBank databases [online] ; Submitted (19-FEB-2001),  
Accession No. AP003208

文献5. Cytogenet. Genome Res. Vol. 102, No. 1-4, (2003), p. 347-354

文献6. The DDBJ/EMBL/GeneBank databases [online] ; Submitted (19-JUN-2002),  
Accession No. AP003208

文献7. The DDBJ/EMBL/GeneBank databases [online] ; Submitted (04-MAY-2000),  
Accession No. AC068591

文献8. The DDBJ/EMBL/GeneBank databases [online] ; Submitted (17-JUN-2003),  
Accession No. AL844840

出願人は、本答弁書と同時に提出した手続補正書により、本願の上記請求項の特許性に関する否定的見解の根拠となる理由がなくなり、肯定的見解が得られるものと確信しておりますが、以下にその理由について申し述べます。

(2) 出願人は、本答弁書と同時に提出した手続補正書により、請求の範囲の記載を

訂正いたしましたが、これにより本願の請求の範囲に記載の発明（以下、「本願発明」という）の要旨は以下の通りになりました。

「 請 求 の 範 囲

1. 以下の (a) 又は (b) の T R F 2 D N A 結合ドメイン変異体タンパク質又はその塩。

(a) 配列番号 2 のアミノ酸配列において、10 位のリシンからアルギニンへの置換、34 位のアラニンからセリンへの置換、47 位のアラニンからセリンへの置換及び 59 位のアルギニンからリシンへの置換からなる群より選択される少なくとも 1 つの置換がなされているアミノ酸配列を有するタンパク質

(b) (a) のタンパク質のアミノ酸配列において、10 位のアミノ酸、34 位のアミノ酸、47 位のアミノ酸及び 59 位のアミノ酸以外の 1 若しくは数個のアミノ酸が欠失、置換若しくは付加されたアミノ酸配列を有し、かつ 5' -TTAGGG-3' で表される配列を含む二重らせん D N A への結合能が配列番号 2 のアミノ酸配列を有する野生型 T R F 2 D N A 結合ドメインよりも高いタンパク質

2. (a) のタンパク質が以下の (i a) ~ (v i a) のいずれかのタンパク質である請求項 1 記載の T R F 2 D N A 結合ドメイン変異体タンパク質又はその塩。

(i a) 配列番号 2 のアミノ酸配列において、10 位のリシンからアルギニンへの置換がなされているアミノ酸配列を有するタンパク質

(i i a) 配列番号 2 のアミノ酸配列において、34 位のアラニンからセリンへの置換がなされているアミノ酸配列を有するタンパク質

(i i i a) 配列番号 2 のアミノ酸配列において、47 位のアラニンからセリンへの置換がなされているアミノ酸配列を有するタンパク質

(i v a) 配列番号 2 のアミノ酸配列において、59 位のアルギニンからリシンへの置換がなされているアミノ酸配列を有するタンパク質

(va) 配列番号 2 のアミノ酸配列において、10 位のリシンからアルギニンへの置換、34 位のアラニンからセリンへの置換、47 位のアラニンからセリンへの置換及び 59 位のアルギニンからリシンへの置換がなされているアミノ酸配列を有するタンパク質

(vi a) 配列番号 2 のアミノ酸配列において、10 位のリシンからアルギニンへの置換及び 47 位のアラニンからセリンへの置換がなされているアミノ酸配列を有するタンパク質

(vii a) 配列番号 2 のアミノ酸配列において、34 位のアラニンからセリンへの置換及び 47 位のアラニンからセリンへの置換がなされているアミノ酸配列を有するタンパク質

(viii a) 配列番号 2 のアミノ酸配列において、10 位のリシンからアルギニンへの置換、34 位のアラニンからセリンへの置換及び 47 位のアラニンからセリンへの置換がなされているアミノ酸配列を有するタンパク質

3. 請求項 1 記載のタンパク質をコードする D N A。
4. 請求項 3 記載の D N A を含有する組換えベクター。
5. 請求項 4 記載の組換えベクターを含む形質転換体。
6. 請求項 3 記載の D N A で形質転換した宿主を培養し、培養物から T R F 2 D N A 結合ドメイン変異体タンパク質を採取することを含む T R F 2 D N A 結合ドメイン変異体タンパク質の製造方法。
7. 請求項 1 記載の T R F 2 D N A 結合ドメイン変異体タンパク質又はその塩に対する抗体。
8. 請求項 1 記載の T R F 2 D N A 結合ドメイン変異体タンパク質を含むタンパク質又はその塩。
9. 請求項 1 又は 8 記載のタンパク質と D N A との複合体。

10. (補正後) 配列番号17の塩基配列において、3番目のTからGへの置換、7番目のGからCへの置換及び9番目のTからGへの置換からなる群より選択される少なくとも1つの置換がなされている塩基配列を有する、塩基数が13であるDNA。

11. (補正後) 以下の(i b)～(i i i b)のいずれかのDNAである請求項10記載のDNA。

(i b) 配列番号19の塩基配列を有する、塩基数が13であるDNA

(i i b) 配列番号20の塩基配列を有する、塩基数が13であるDNA

(i i i b) 配列番号21の塩基配列を有する、塩基数が13であるDNA

12. 配列番号2のアミノ酸配列を有するTRF2DNA結合ドメイン又は該ドメインを含むタンパク質が、10位のリシン、34位のアラニン、47位のアラニン及び59位のアルギニンからなる群より選択される少なくとも1つのアミノ酸部位で、被験物質と相互作用するか否かを解析し、相互作用する場合には、被験物質がテロメアDNAとTRF2との結合を制御することができると判定することを含む、テロメアDNAとTRF2との結合を制御することができる物質をスクリーニングする方法。

13. 「5'-TTAGGG-3'」で表される配列を含む二重らせんDNAの存在下で、配列番号2のアミノ酸配列を有するTRF2DNA結合ドメイン又は該ドメインを含むタンパク質が、10位のリシン、34位のアラニン、47位のアラニン及び59位のアルギニンからなる群より選択される少なくとも1つのアミノ酸部位で、被験物質と相互作用するか否かを解析する請求項12記載の方法。」

(変更箇所に下線を引きました。)

上記請求項の下線部の補正事項につきまして、補正の根拠を以下に説明いたします。

請求項10の「塩基数が13である」という事項は、本願の出願当初の明細書に添付いたしました配列表の配列番号17の塩基配列の塩基数（13個）に基づくもの

であります。

請求項 1 1 の「配列番号 1 9 の塩基配列を有する、……DNA」、「配列番号 2 0 の塩基配列を有する、……DNA」及び「配列番号 2 1 の塩基配列を有する、……DNA」という事項は、本願の出願当初の明細書第 2 3 頁第 1 行目～第 9 行目の記載に基づくものであります。

請求項 1 1 の「塩基数が 1 3 である」という事項は、本願の出願当初の明細書に添付いたしました配列表の配列番号 1 9、2 0 及び 2 1 の塩基配列の塩基数（1 3 個）に基づくものであります。

以上のことから、上記の補正事項は、いずれも本願の出願当初の明細書に記載した事項の範囲内においてしたものであることがお判り頂けたことと存じます。

### （3）請求の範囲 1 0 及び 1 1 に係る発明の新規性・進歩性について

文献 1 には、前立腺癌の分化のための方法及び核酸が記載されています。また、化学的に処理された、数百～数万個の塩基数の配列を有する DNA（配列番号 1 ～ 1 1 2）及び 1 8 ～ 1 9 個の塩基数の配列を有する DNA（配列番号 1 1 3 ～ 1 1 6）が記載されています。配列番号 1 ～ 1 1 2 の DNA はゲノム DNA であり、配列番号 1 1 3 ～ 1 1 4 の DNA は TGFA プライマーであり、配列番号 1 1 5 ～ 1 1 6 の DNA は TGFA 検出オリゴマーであります。また、Table 1（1 5 ～ 1 9 頁）には、複数のプライマーの塩基配列が記載されています。

文献 2 には、ヒトゲノム DNA、染色体 11q24、クローン RP11-382J20 に由来する 164784 塩基対の配列が記載されています。

文献 3 には、コメ染色体 1 のゲノム配列及び構造について記載されています。

文献 4 には、Oryza sativa ゲノム DNA、染色体 1、BAC クローン B1158F07 に由来する 139491 塩基対の配列が記載されています。

文献 5 には、ニジマス c DNA ライブライリーの配列分析及びゲノムインデ

ツクスの作成について記載されています。

文献 6 には、*Oryza sativa* ゲノムDNA、染色体 1、BAC クローン B1158F07 に由来する 139491 塩基対の配列が記載されています。

文献 7 には、ヒト染色体 11、クローン RP11-797118 map 11 に由来する 215647 塩基対の配列が記載されています。

文献 8 には、染色体 2 上のクローン RP23-337P9 由来のマウスDNA配列である 219568 塩基対の配列が記載されています。

本願の請求の範囲 10 及び 11 に係る発明は、「配列番号 17 の塩基配列において、3 番目の T から G への置換、7 番目の G から C への置換及び 9 番目の T から G への置換からなる群より選択される少なくとも 1 つの置換がなされている塩基配列を有する、塩基数が 13 であるDNA」であります。これらのDNAはテロメアDNA変異体であり、テロメアタンパク質と相互作用するものであります（本願明細書第 22 頁下から第 7 行目～第 23 頁下から第 4 行目（8. テロメアDNA変異体）及び第 22 頁第 3 行目～第 42 頁（実施例）を参照のこと）。

文献 1～8 のいずれにも、「配列番号 17 の塩基配列において、3 番目の T から G への置換、7 番目の G から C への置換及び 9 番目の T から G への置換からなる群より選択される少なくとも 1 つの置換がなされている塩基配列を有する、塩基数が 13 であるDNA。」は記載されていません。

また、文献 1～8 のいずれにも、テロメアDNA変異体について開示も示唆もされていません。

従いまして、本願の請求の範囲 10 及び 11 に係る発明は、文献 1～8 に対して新規性及び進歩性を有するのであります。

#### （4）結語

以上に詳述しましたように、本願の請求の範囲10及び11に係る発明は、文献1～8に対して新規性・進歩性を有するものであります。

つきましては、再度ご審査の上、本願発明の特許性について肯定的な見解を出してくださるようお願い申し上げます。

なお、本答弁書による説明をもちましても、本願発明の特許性に疑問が残ると審査官殿が判断される場合には、再度ご説明させていただきたいと思いますので、本願の代理人に電話連絡を入れてくださるようお願い申し上げます。本願代理人の連絡先は以下の通りであります。

弁理士 間山 世津子

野村・間山特許事務所

〒221-0835 横浜市神奈川区鶴屋町3-30-1 農機会館ビル4階

Tel. (045) 290-7480

Fax. (045) 290-5015

10/590464

IAP12 Rec'd PCT/PTO 23 AUG 2006

REPLY (ARGUMENT)

To: Examiner of the Patent Office

1. Identification of the International Application

PCT/JP2005/003237

2. Applicant

Name: KIHARA MEMORIAL YOKOHAMA FOUNDATION FOR THE  
ADVANCEMENT OF LIFE SCIENCES

Address: 641-12, Maioka-cho, Totsuka-ku, Yokohama-shi,  
Kanagawa 244-0813 Japan

Country of nationality: Japan

Country of residence: Japan

Name: YOKOHAMA CITY UNIVERSITY

Address: 22-2, Seto, Kanazawa-ku, Yokohama-shi, Kanagawa  
236-0027 Japan

Country of nationality: Japan

Country of residence: Japan

3. Agent

Name: MAYAMA Setsuko

Address: Nohki-kaikan Fourth Floor, 30-1, Tsuruyacho  
3-chome, Kanagawa-ku, Yokohama-shi, Kanagawa  
221-0835 Japan

4. Date of Notification: 20.09.05

5. Subject Matter of Reply (Argument)

(1) Summary of Written Opinion of the International Search Authority  
The Applicant has received a written opinion of the International Search Authority drafted on July 19, 2005. In the written opinion, it is stated that the inventions of claims 10 and 11 do not have novelty and inventive step over References 1-8 cited in the International Search Report.

References:

1. WO 2002/103042 A2 (EPIGENOMICS AG.) 2002.12.27
2. The DDBJ/EMBL/GeneBank databases [online]; Submitted (10-MAR-2000), Accession No.AP001384
3. Nature, Vol.420, (2002), p.312-316
4. The DDBJ/EMBL/GeneBank databases [online]; Submitted (19-FEB-2001), Accession No.AP003208
5. Cytogenet. Genome Res. Vol. 102, No.1-4, (2003), p.347-354
6. The DDBJ/EMBL/GeneBank databases [online]; Submitted (19-JUN-2002), Accession No.AP003208
7. The DDBJ/EMBL/GeneBank databases [online]; Submitted (04-MAY-2000), Accession No.AC068591
8. The DDBJ/EMBL/GeneBank databases [online]; Submitted (17-JUN-2003), Accession No.AL844840

The Applicants believe that the amendment filed together with this argument will change the outstanding negative opinion on the patentability of the claimed inventions to a positive opinion thereon for the following reasons.

(2) The claims were amended as follows:

" CLAIMS

1. A TRF2 DNA-binding domain mutant protein comprising:
  - (a) a TRF2 DNA-binding domain mutant protein having an amino acid sequence as shown in SEQ ID NO: 2 but with at least one substitution selected from the group consisting of substitution of the lysine residue with arginine at position 10, substitution of the alanine residue with serine at position 34, substitution of the alanine residue with serine at position 47 and substitution of the arginine residue with lysine at position 59; or
  - (b) a TRF2 DNA-binding domain mutant protein having an amino acid

sequence of the mutant protein of (a) above but with one or several amino acid residues other than the amino acid residues at positions 10, 34, 47 and 59 being deleted, substituted or added, and which has a higher binding ability to a duplex DNA comprising a sequence represented by 5'-TTAGGG-3' than a wild-type TRF2 DNA-binding domain protein having an amino acid sequence as shown in SEQ ID NO: 2; or  
a salt of (a) or (b).

2. The TRF2 DNA-binding domain mutant protein or a salt thereof according to claim 1, wherein the mutant protein of (a) is any one of the following (ia) to (via):

(ia) a protein having an amino acid sequence as shown in SEQ ID NO: 2 but with the lysine residue at position 10 being substituted with arginine;

(iia) a protein having an amino acid sequence as shown in SEQ ID NO: 2 but with the alanine residue at position 34 being substituted with serine;

(iiia) a protein having an amino acid sequence as shown in SEQ ID NO: 2 but with the alanine residue at position 47 being substituted with serine;

(iva) a protein having an amino acid sequence as shown in SEQ ID NO: 2 but with the arginine residue at position 59 being substituted with lysine;

(va) a protein having an amino acid sequence as shown in SEQ ID NO: 2 but with the lysine residue at position 10 being substituted with arginine, the alanine residue at position 34 being substituted with serine, the alanine residue at position 47 being substituted with serine and the arginine residue at position 59 being substituted with lysine;

(via) a protein having an amino acid sequence as shown in SEQ ID NO: 2 but with the lysine residue at position 10 being substituted with arginine and the alanine residue at position 47 being substituted with serine;

(viia) a protein having an amino acid sequence as shown in SEQ ID NO: 2 but with the alanine residue at position 34 being substituted with serine and the alanine residue at position 47 being substituted with serine; or

(viiia) a protein having an amino acid sequence as shown in SEQ

ID NO: 2 but with the lysine residue at position 10 being substituted with arginine, the alanine residue at position 34 being substituted with serine and the alanine residue at position 47 being substituted with serine.

3. An isolated DNA encoding the protein according to claim 1.

4. A recombinant vector comprising the DNA according to claim 3.

5. A transformant comprising the recombinant vector according to claim 4.

6. A method of producing a TRF2 DNA-binding domain mutant protein, comprising culturing a host transformed with the DNA according to claim 3 and recovering the TRF2 DNA-binding domain mutant protein from the resultant culture.

7. An antibody to the TRF2 DNA-binding domain mutant protein or a salt thereof according to claim 1.

8. A protein comprising the TRF2 DNA-binding domain mutant protein according to claim 1; or a salt thereof.

9. A complex of the protein according to claim 1 or 8 and a DNA.

10. A DNA having a 13-base nucleotide sequence as shown in SEQ ID NO: 17 but with at least one substitution selected from the group consisting of substitution of the T at position 3 with G, substitution of the G at position 7 to C and substitution of the T at position 9 to G.

11. The DNA according to claim 10, which is any one of the following  
(ib) to (iiib):

(ib) a DNA having a 13-base nucleotide sequence as shown in SEQ ID NO: 19,

(iib) a DNA having a 13-base nucleotide sequence as shown in SEQ

ID NO: 20, or

(iiib) a DNA having a 13-base nucleotide sequence as shown in SEQ ID NO: 21.

12. A method of screening for substances which are capable of regulating the binding of telomeric DNA to TRF2, comprising analyzing whether or not a TRF2 DNA-binding domain having an amino acid sequence as shown in SEQ ID NO: 2 or a protein comprising said domain interacts with a test substance at least at one amino acid site selected from the group consisting of the lysine residue at position 10, the alanine residue at position 34, the alanine residue at position 47 and the arginine residue at position 59, wherein said test substance is judged to be capable of regulating the binding of telomeric DNA to TRF2 when said test substance interacted with said domain or said protein.

13. The method according to claim 12, wherein whether or not a TRF2 DNA-binding domain having an amino acid sequence as shown in SEQ ID NO: 2 or a protein comprising said domain interacts with a test substance at least at one amino acid site selected from the group consisting of the lysine residue at position 10, the alanine residue at position 34, the alanine residue at position 47 and the arginine residue at position 59 is analyzed in the presence of a duplex DNA comprising a sequence represented by 5'-TTAGGG-3'."

The revised portions are underlined.

The supports for the amendment will be explained hereinafter.

The supports for the word "13-base" in amended claim 10 can be found in the number of bases (i.e., 13 bases) of SEQ ID NO: 17 of the sequence listing attached to the specification originally filed.

The supports for the phrases "a DNA having a (13-base) nucleotide sequence as shown in SEQ ID NO: 19", "a DNA having a (13-base) nucleotide sequence as shown in SEQ ID NO: 20", and "a DNA having a (13-base) nucleotide sequence as shown in SEQ ID NO: 21" in amended claim 11 can be found at lines 1-9 on page 20 of the specification originally filed.

The supports for the word "13-base" in amended claim 11 can be found in the number of bases (i.e., 13 bases) of SEQ ID NOS: 19, 20 and 21 of the sequence listing attached to the specification originally filed.

Therefore, the amendment is fully supported by the description in the claims and specification originally filed.

(3) Novelty and Inventive Step of claims 10 and 11

Reference 1 teaches a method and nucleic acids for the differentiation of prostate tumors. Additionally, it discloses chemically treated DNAs having several hundred- or ten thousand-base nucleotide sequences (e.g., SEQ ID NOS: 1-112) and DNAs having 18- or 19-base nucleotide sequences (e.g., SEQ ID NOS: 113-116). DNAs of SEQ ID NOS: 1-112 are genomic DNAs. DNAs of SEQ ID NOS: 113 and 114 are TGFA primers. DNAs of SEQ ID NOS: 115 and 116 are TGFA detection oligomers. In Table 1 on pages 15-19, nucleotide sequences of a large number of primers are listed.

Reference 2 teaches a 164784 bp nucleotide sequence from Homo sapiens genomic DNA, chromosome 11q24 clone:RP11-382J20.

Reference 3 teaches the genome sequence and structure of rice chromosome 1.

Reference 4 teaches a 139491 bp nucleotide sequence from Oryza sativa (japonica cultivar-group) genomic DNA, chromosome 1, BAC clone:B1158F07.

Reference 5 teaches sequence analysis of a rainbow trout cDNA library and creation of a gene index.

Reference 6 teaches a 139491 bp nucleotide sequence from Oryza sativa (japonica cultivar-group) genomic DNA, chromosome 1, BAC clone:B1158F07.

Reference 7 teaches a 215647 bp nucleotide sequence from Homo sapiens genomic DNA, chromosome 11 clone:RP11-797118map11.

Reference 8 teaches a 219568 bp nucleotide sequence from Mouse DNA sequence from clone RP23-337P9 on chromosome 2.

The inventions of amended claims 10 and 11 are directed to DNAs having 13-base nucleotide sequences as shown in SEQ ID NO: 17 but with at least one substitution selected from the group consisting of substitution of the T at position 3 with G, substitution of the G at position 7 to C and substitution of the T at position 9 to G. These DNAs are telomeric DNA mutants which interact with telomeric proteins (see the description from line 8 from the bottom on page 19 to line 9 from the bottom on page 20 (8. Telomeric DNA Mutant) and Examples from line 10 from the bottom on page 23 to the last line on page 35 of the specification).

However, none of References 1-8 teaches DNAs having 13-base nucleotide sequences as shown in SEQ ID NO: 17 but with at least one substitution selected from the group consisting of substitution of the T at position 3 with G, substitution of the G at position 7 to C and substitution of the T at position 9 to G.

Additionally, none of References 1-8 discloses or suggests telomeric DNA mutants.

Therefore, the present inventions of amended claims 10 and 11 have novelty and inventive step over References 1-8.

#### (4) Conclusion

In conclusion, the present inventions of amended claims 10 and 11 have novelty and inventive step over References 1-8 as explained above.

Such being the case, please consider the above argument and provide the Applicant with a positive opinion on the patentability of the present inventions.

If the Examiner still has a question about the patentability of the present inventions after having read this argument, please contact the following agent, who will explain again in detail.

Patent attorney Mayama Setsuko  
Nomura & Mayama  
Nohki-kaikan Fourth Floor, 30-1, Tsuruyacho 3-chome, Kanagawa-ku,  
Yokohama-shi, Kanagawa 221-0835 Japan  
Tel: 045-290-7480  
Fax: 045-290-5015